

Etude écotoxicologique de la sensibilité aux contaminants métalliques de la moule perlière *Margaritifera margaritifera* en Dronne amont, Dordogne (France)

**Baudrimont M.¹, Gonzalez P., Legeay A., Mesmer-Dudons N.,
Goursolle E., Chevalier J., Pecassou B., Papin-Vincent R.**

¹ Université de Bordeaux, UMR CNRS EPOC 5805, Écotoxicologie Aquatique, Station Marine,
Place du Dr Peyneau, 33120 Arcachon, France

m.baudrimont@epoc.u-bordeaux1.fr

Contexte de l'étude

- *Margaritifera margaritifera* : espèce en voie de disparition en France. Protégée par les Annexes II et V de la Directive Habitats ainsi que par l'Annexe III de la convention de Berne. Liste rouge des espèces menacées d'extinction.
- Causes de son déclin au cours du XXème siècle : altération générale de la qualité de l'eau, destruction des habitats, colmatage des sédiments, pollution par les pesticides, phosphates et azotes responsables de l'eutrophisation.

Contexte de l'étude

- Environ 100 000 individus sont recensés en France.
En Dordogne : population de 15 000 individus localisée sur la Dronne.
- Rivière Dronne : peu polluée, mais activités de son Bassin versant ont conduit à une certaine dégradation progressive de sa qualité.
- Exemple : décharge sauvage à St Saud Lacoussière, juste au-dessus d'un pavage de *M. margaritifera* (1000 à 1500 individus)
→ **Impact direct des micropolluants sur les organismes?**
- Très peu d'études écotoxicologiques développées sur la moule perlière.

Objectifs de l'étude

- Impact potentiel de la décharge sauvage de St Saud Lacoussière sur la population de *M. margaritifera* en Dronne.
- Impact ciblé de deux contaminants bien connus pour impacter les bivalves : le cadmium et l'arsenic, à partir d'études développées en conditions contrôlées de laboratoire.
- Connaissances nouvelles sur la sensibilité de l'espèce aux micropolluants métalliques et ainsi identifier les populations à risque *in situ*.



Autorisation de prélèvement de 113 individus sur la Dronne a été accordée par le Ministère de l'Environnement en 2009 pour développer ces premières études écotoxicologiques sur l'espèce

Prélèvements de terrain



La Dronne

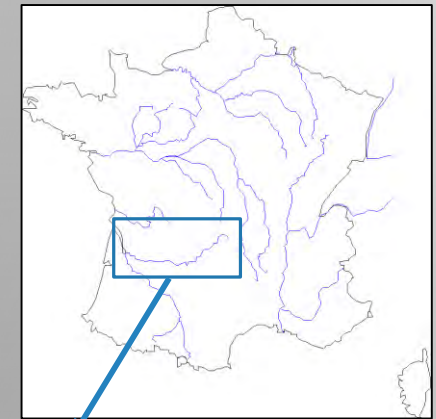
Ruisseau

Amont

Décharge
sauvage

Aval

France



Trois périodes de prélèvements : avril 2009, juillet 2009 et mars 2010
10 individus amont et 10 individus aval à chaque période
→ 60 individus au total

Expérimentation en laboratoire

Témoin
Amont
décharge

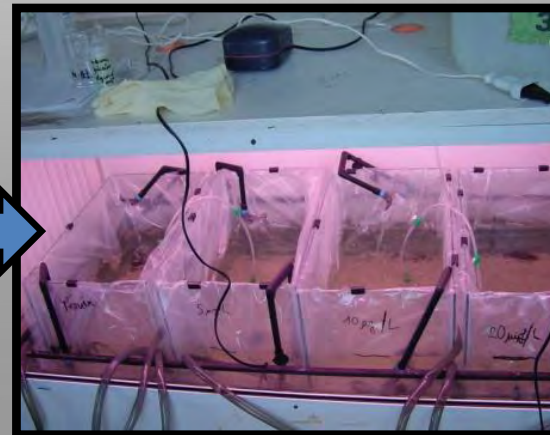
Aval
décharge

Cadmium
2 $\mu\text{g/L}$

Cadmium
5 $\mu\text{g/L}$

Oestradiol

7 cm sable
Eau de la Dronne
6 individus par bac
 $T^{\circ}\text{C} = 18,76 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$
 $\text{O}_2 = 9,11 \pm 0,03 \text{ mg/L}$
 $\text{pH} = 7,20 \pm 0,05$
16h jour / 8h nuit

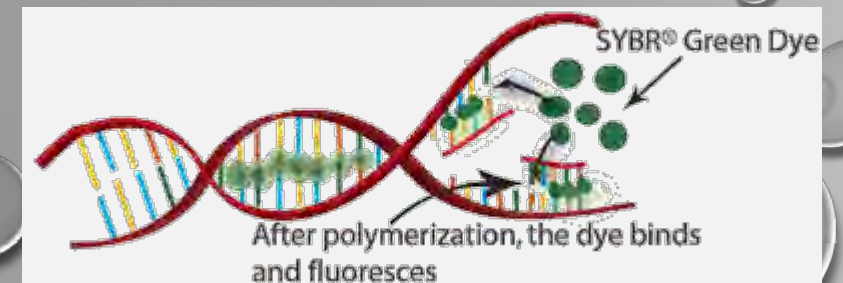
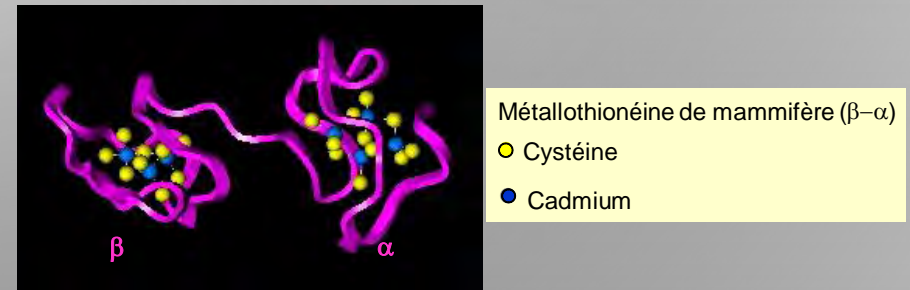
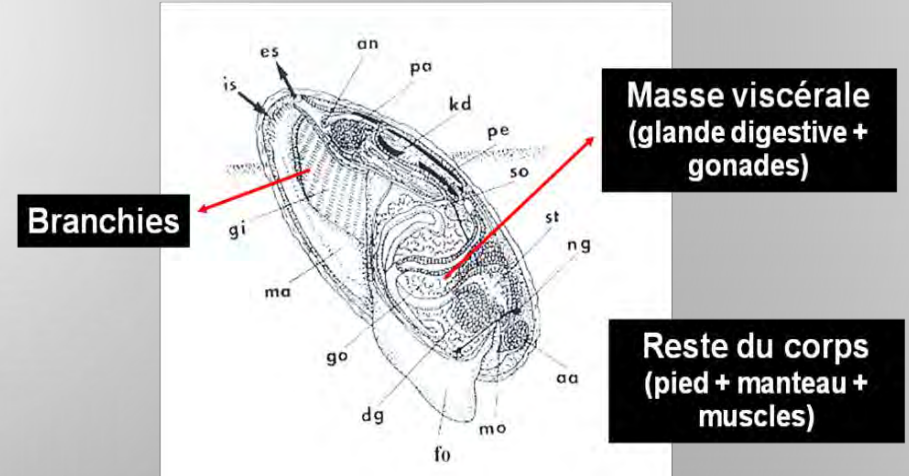
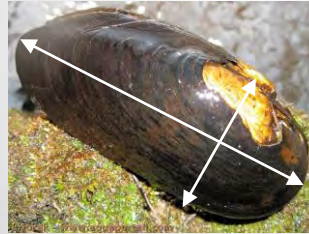


14 j d'acclimatation
7 j d'exposition

→ 30 individus expérimentés en juillet 2009

Paramètres analysés

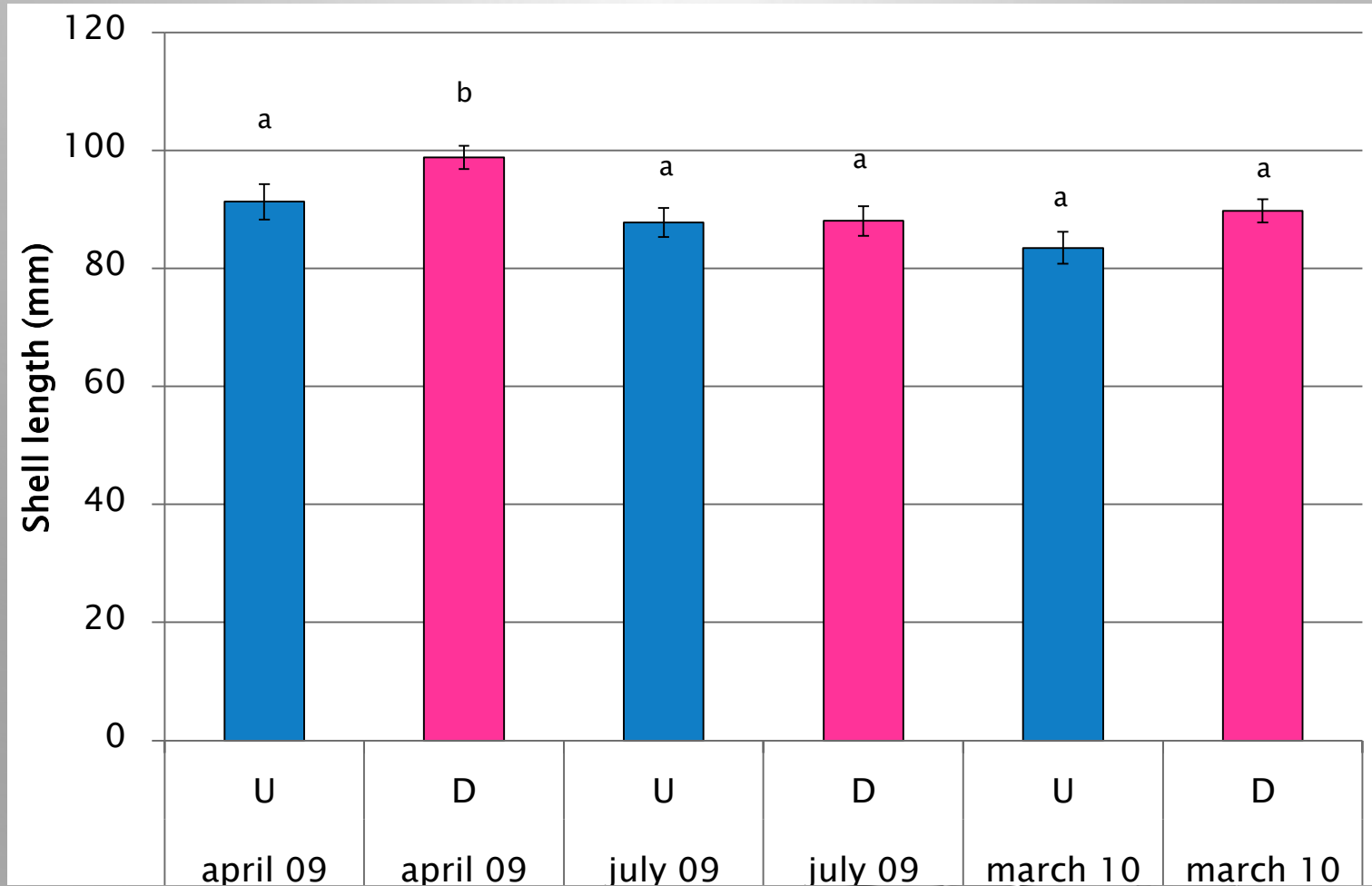
- Mesures morphométriques
- Analyses en microscopie de la gonade
- Bioaccumulation des métaux dans les organes
- Quantification des métallothionéines
- Dosage du malonedialdéhyde
- Quantification relative de l'expression des gènes (ARNm)



Résultats et discussion

Terrain

Mesure de la longueur des coquilles (mm)



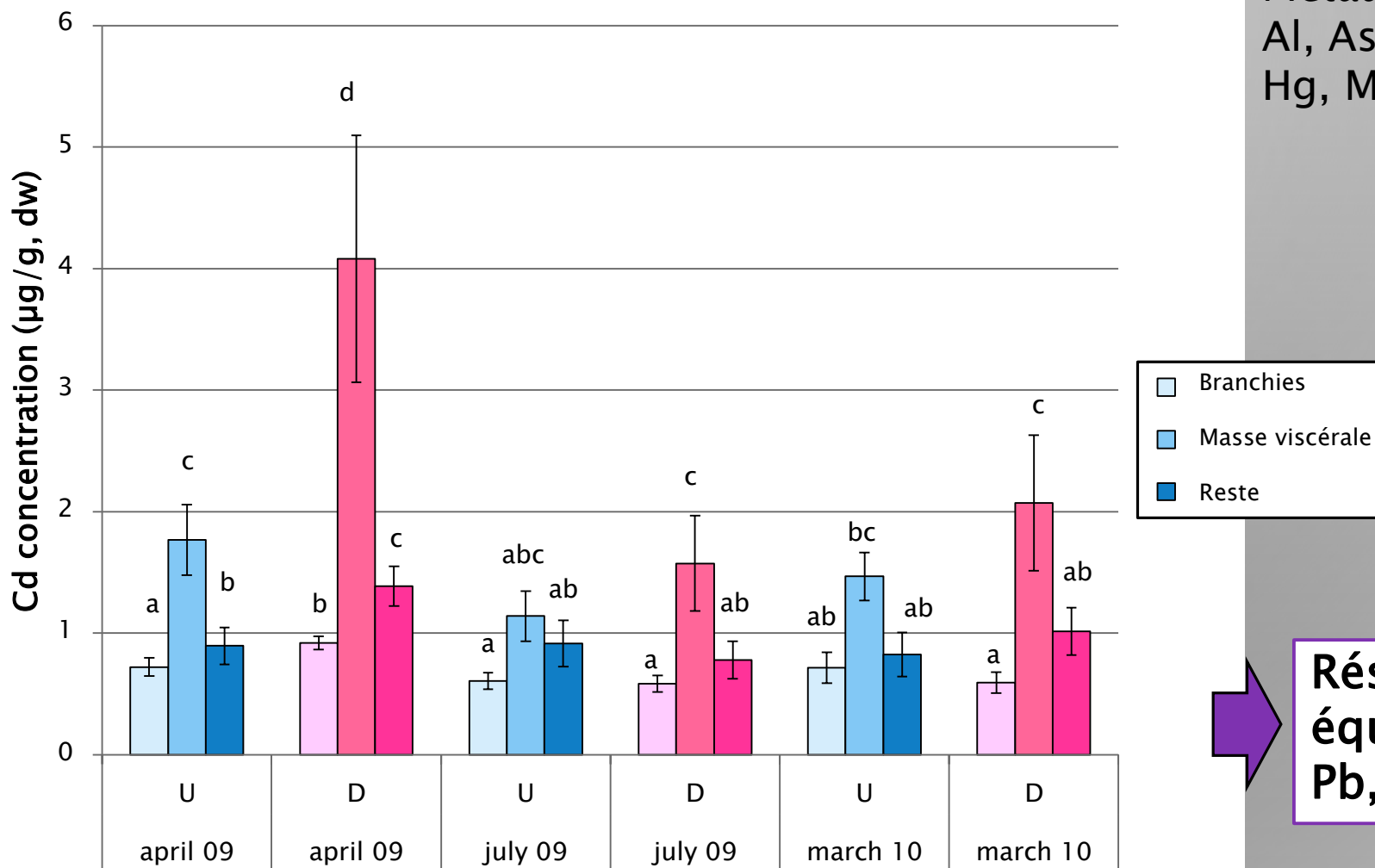
U : Upstream
D : Downstream

Résultats et discussion

Terrain

Bioaccumulation du cadmium (Cd)

Métaux analysés : Ag, Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, V, Zn

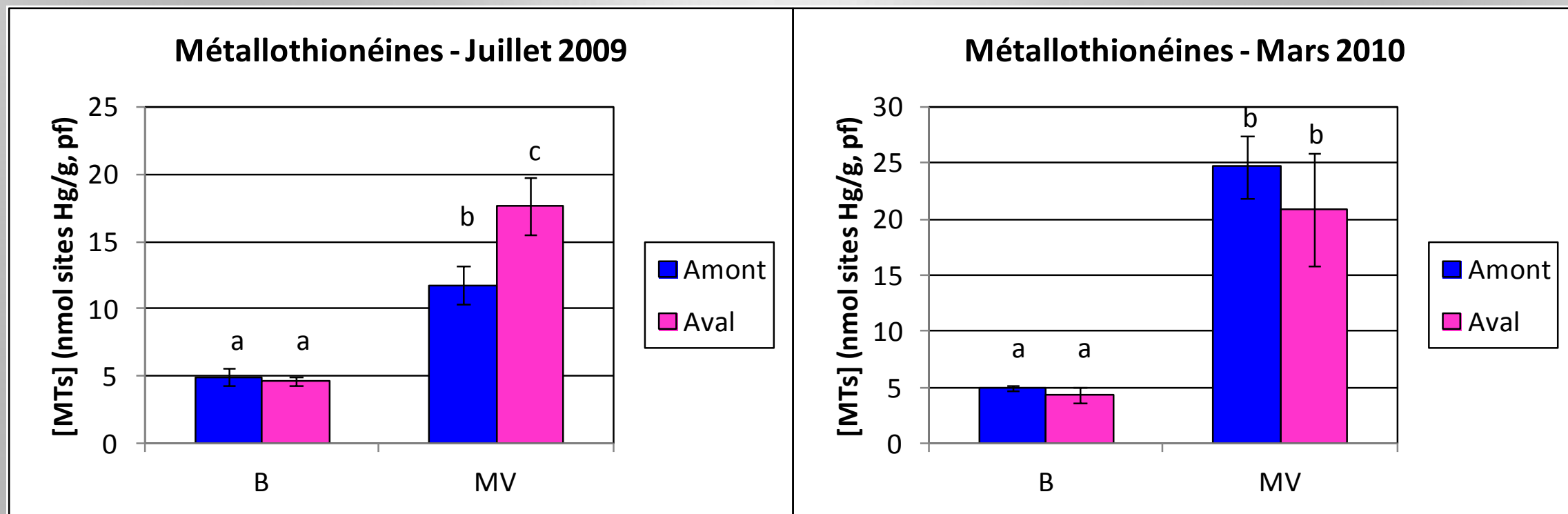


Résultats équivalents pour : Pb, Cr, As et Co

Résultats et discussion

Terrain

Concentrations en métallothionéines (MTs)



Réponse significative de détoxification face aux métaux

Résultats et discussion

Terrain

Expression quantitative des gènes

Facteurs d'induction (> 1) ou de répression (< 1) des gènes entre l'amont et l'aval mesurés en Juillet 2009

Fonction	Organe	Branchies	Masse viscérale	Rein
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	1,09	1,91	0,72
	<i>sodMn</i>	0,65	1,65	0,79
Métabolisme mitochondrial	12S	0,75	0,75	0,51
	<i>coxI</i>	1,53	2,61	2,15
Détoxication	<i>mt</i>	0,31	1,81	0,58

Pour les trois organes : perturbation significative du métabolisme mitochondrial à l'aval par rapport à l'amont

Résultats et discussion

Terrain

Expression quantitative des gènes

Facteurs d'induction (> 1) ou de répression (< 1) des gènes entre l'amont et l'aval mesurés en Juillet 2009

Fonction	Organe	Branchies	Masse viscérale	Rein
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	1,09	1,91	0,72
	<i>sodMn</i>	0,65	1,65	0,79
Métabolisme mitochondrial	12S	0,75	0,75	0,51
	<i>coxI</i>	1,53	2,61	2,15
Détoxification	<i>mt</i>	0,31	1,81	0,58



Masse viscérale: stress oxydant significatif et détoxification par les métallothionéines

Résultats et discussion

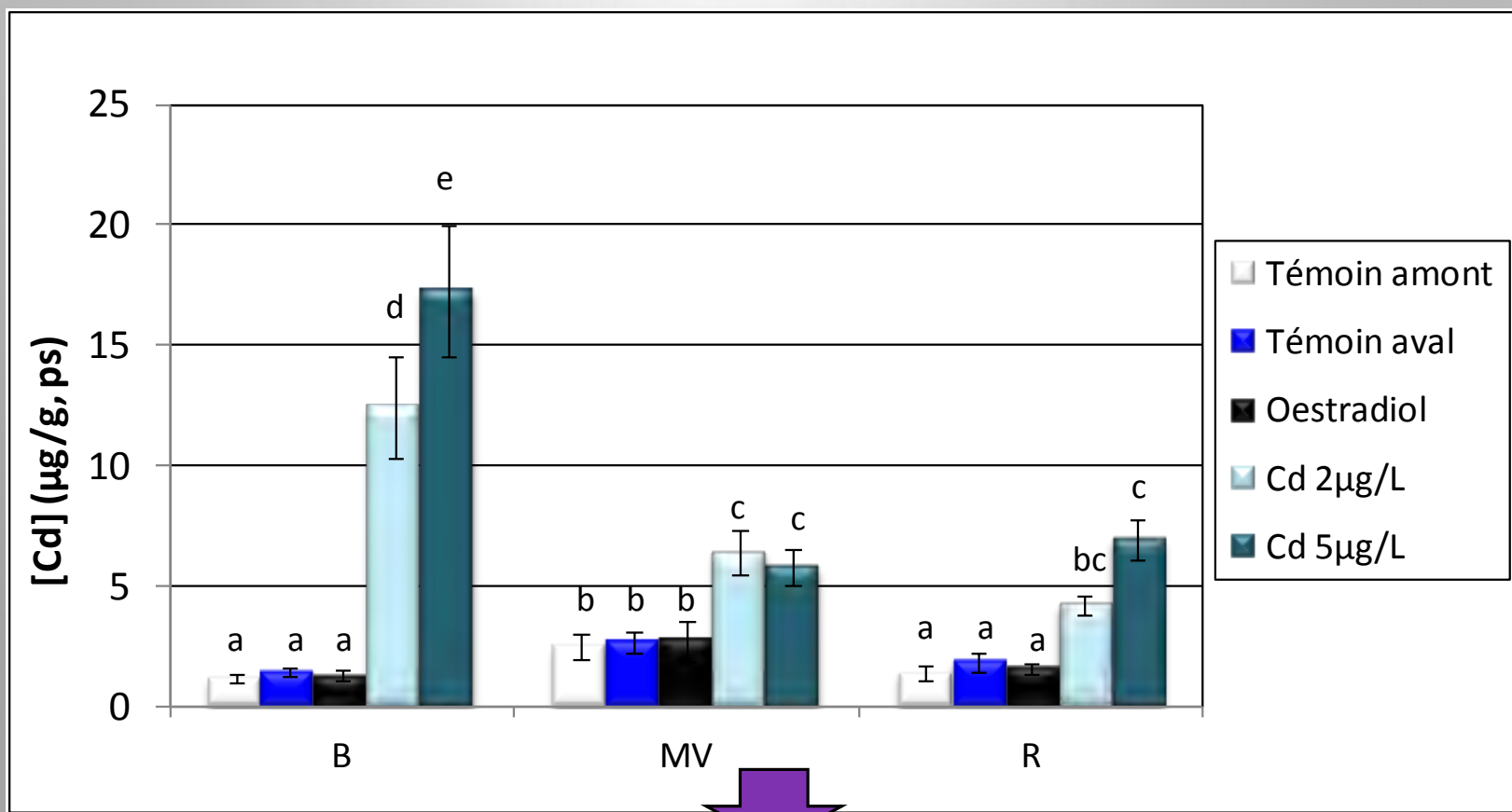
→ Terrain

Effet significatif de la décharge de St saud Lacoussière sur les moules perlières de la Dronne, en terme de bioaccumulation métallique, de mécanismes de détoxification et d'effets génétiques

Résultats et discussion

Laboratoire

Bioaccumulation du cadmium (Cd)

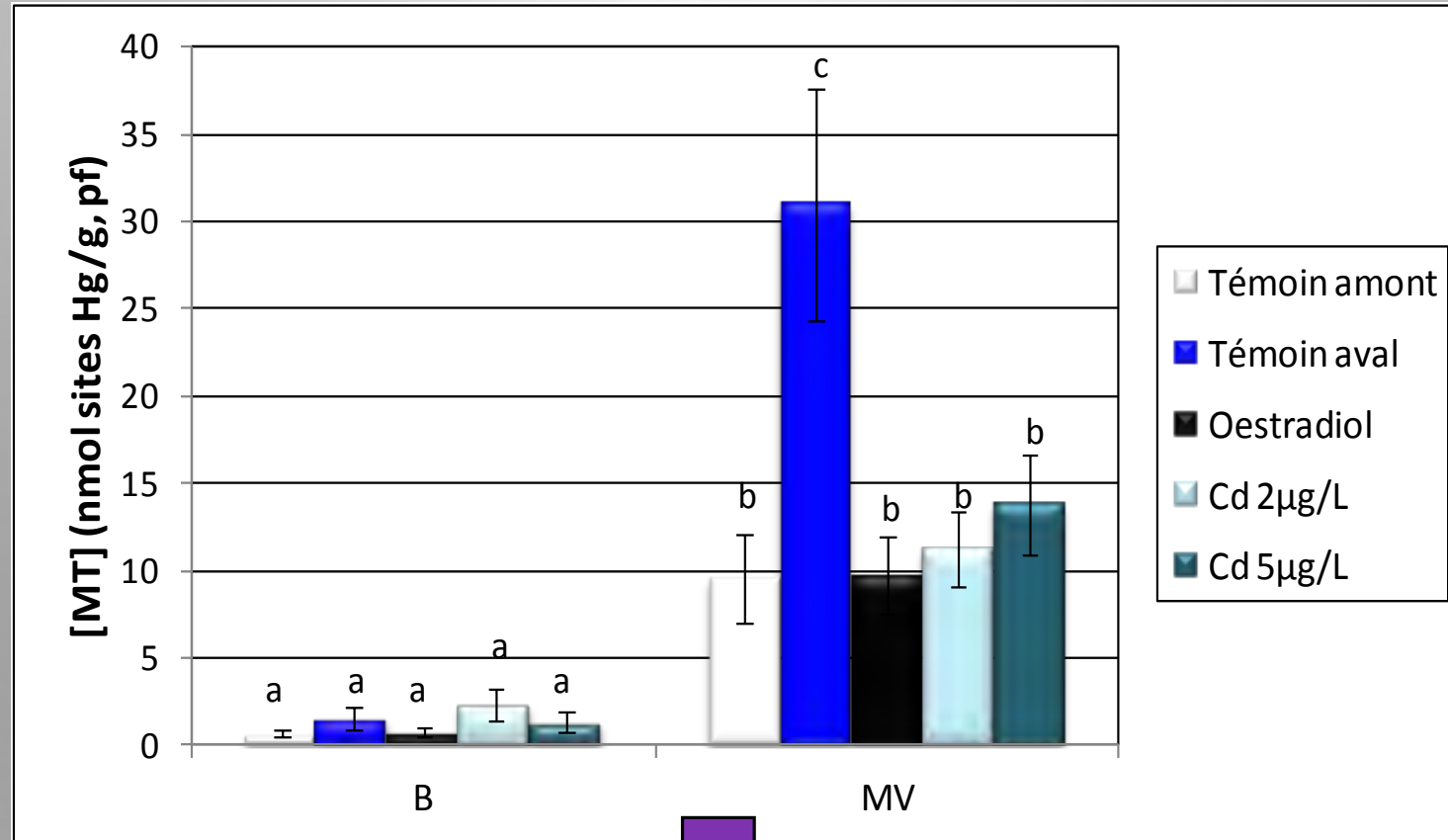


Accumulation significative du Cd dans les conditions Cd dès 2 µg/L avec un faible effet gamme

Résultats et discussion

Laboratoire

Concentrations de métallothionéines (MTs)



Pas de réponse des MTs au Cd en laboratoire, mais réponse significative des MTs dans la masse viscérale en conditions Témoin aval

Expression quantitative des gènes

Laboratoire

Aval par rapport à l'amont :

- Stress oxydant
- Perturbation du métabolisme mitochondrial
- Détoxification

Fonction	Branchies	Aval/Amont	Oest/Amont	2µgCd/Amont	5µgCd/Amont
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	0,51	0,15	0,34	0,12
	<i>sodMn</i>	6,00	1,34	0,62	0,55
Métabolisme mitochondrial	12S	1,76	3,85	0,56	7,63
	<i>coxI</i>	3,31	1,36	4,41	19,51
Détoxification	<i>mt</i>	36,32	0,99	3,65	18,12
Fonction	Masse viscérale	Aval/Amont	Oest/Amont	2µgCd/Amont	5µgCd/Amont
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	0,47	0,72	0,71	0,64
	<i>sodMn</i>	1,94	4,33	6,05	1,77
Métabolisme mitochondrial	12S	16,88	2,26	0,96	0,64
	<i>coxI</i>	10,51	6,52	3,41	7,44
Détoxification	<i>mt</i>	15,19	1,60	4,77	9,38
Fonction	Rein	Aval/Amont	Oest/Amont	2µgCd/Amont	5µgCd/Amont
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	0,51	0,04	0,81	0,48
	<i>sodMn</i>	1,08	0,80	0,33	0,73
Métabolisme mitochondrial	12S	13,67	0,17	0,82	1,37
	<i>coxI</i>	3,31	2,61	35,25	181,20
Détoxification	<i>mt</i>	1085,04	0,57	6,81	22,48

Expression quantitative des gènes

Laboratoire

Effet de l'oestradiol :

- Stress oxydant
- Perturbation du métabolisme mitochondrial

Fonction	Branchies	Aval/Amont	Oest/Amont	2µgCd/Amont	5µgCd/Amont
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	0,51	0,15	0,34	0,12
	<i>sodMn</i>	6,00	1,34	0,62	0,55
Métabolisme mitochondrial	12S	1,76	3,85	0,56	7,63
	<i>coxI</i>	3,31	1,36	4,41	19,51
Détoxication	<i>mt</i>	36,32	0,99	3,65	18,12
Fonction	Masse viscérale	Aval/Amont	Oest/Amont	2µgCd/Amont	5µgCd/Amont
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	0,47	0,72	0,71	0,64
	<i>sodMn</i>	1,94	4,33	6,05	1,77
Métabolisme mitochondrial	12S	16,88	2,26	0,96	0,64
	<i>coxI</i>	10,51	6,52	3,41	7,44
Détoxication	<i>mt</i>	15,19	1,60	4,77	9,38
Fonction	Rein	Aval/Amont	Oest/Amont	2µgCd/Amont	5µgCd/Amont
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	0,51	0,04	0,81	0,48
	<i>sodMn</i>	1,08	0,80	0,33	0,73
Métabolisme mitochondrial	12S	13,67	0,17	0,82	1,37
	<i>coxI</i>	3,31	2,61	35,25	181,20
Détoxication	<i>mt</i>	1085,04	0,57	6,81	22,48

Expression quantitative des gènes

Laboratoire

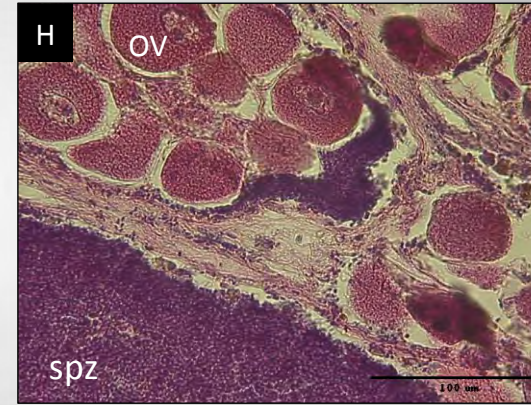
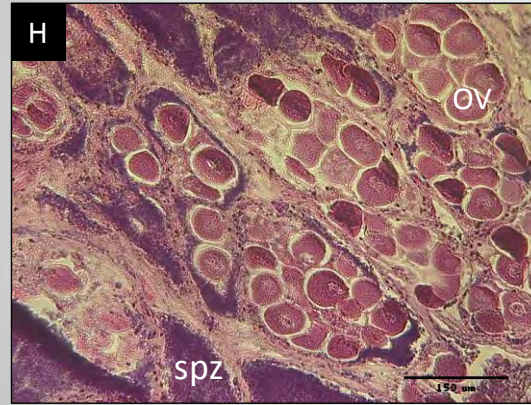
Effet Cd :

- Stress oxydant
- Perturbation du métabolisme mitochondrial
- Détoxication

Fonction	Branchies	Aval/Amont	Oest/Amont	2µgCd/Amont	5µgCd/Amont
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	0,51	0,15	0,34	0,12
	<i>sodMn</i>	6,00	1,34	0,62	0,55
Métabolisme mitochondrial	12S	1,76	3,85	0,56	7,63
	<i>coxI</i>	3,31	1,36	4,41	19,51
Détoxication	<i>mt</i>	36,32	0,99	3,65	18,12
Fonction	Masse viscérale	Aval/Amont	Oest/Amont	2µgCd/Amont	5µgCd/Amont
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	0,47	0,72	0,71	0,64
	<i>sodMn</i>	1,94	4,33	6,05	1,77
Métabolisme mitochondrial	12S	16,88	2,26	0,96	0,64
	<i>coxI</i>	10,51	6,52	3,41	7,44
Détoxication	<i>mt</i>	15,19	1,60	4,77	9,38
Fonction	Rein	Aval/Amont	Oest/Amont	2µgCd/Amont	5µgCd/Amont
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	0,51	0,04	0,81	0,48
	<i>sodMn</i>	1,08	0,80	0,33	0,73
Métabolisme mitochondrial	12S	13,67	0,17	0,82	1,37
	<i>coxI</i>	3,31	2,61	35,25	181,20
Détoxication	<i>mt</i>	1085,04	0,57	6,81	22,48

Témoin Amont

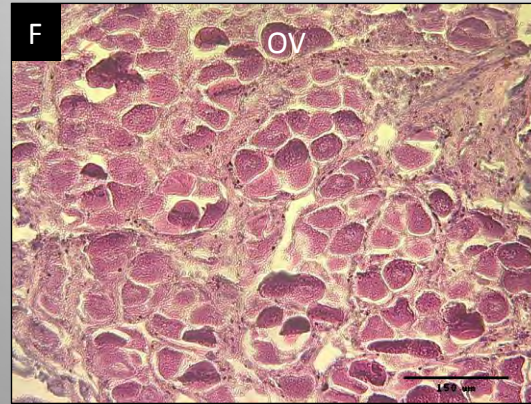
Témoin Amont



Hermaphrodite

Oestradiol

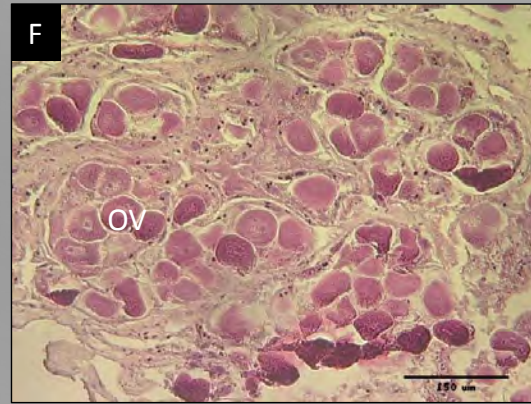
Oestradiol



Femelle

Cd 5 µg/L

Cd 5 µg/L



Femelle

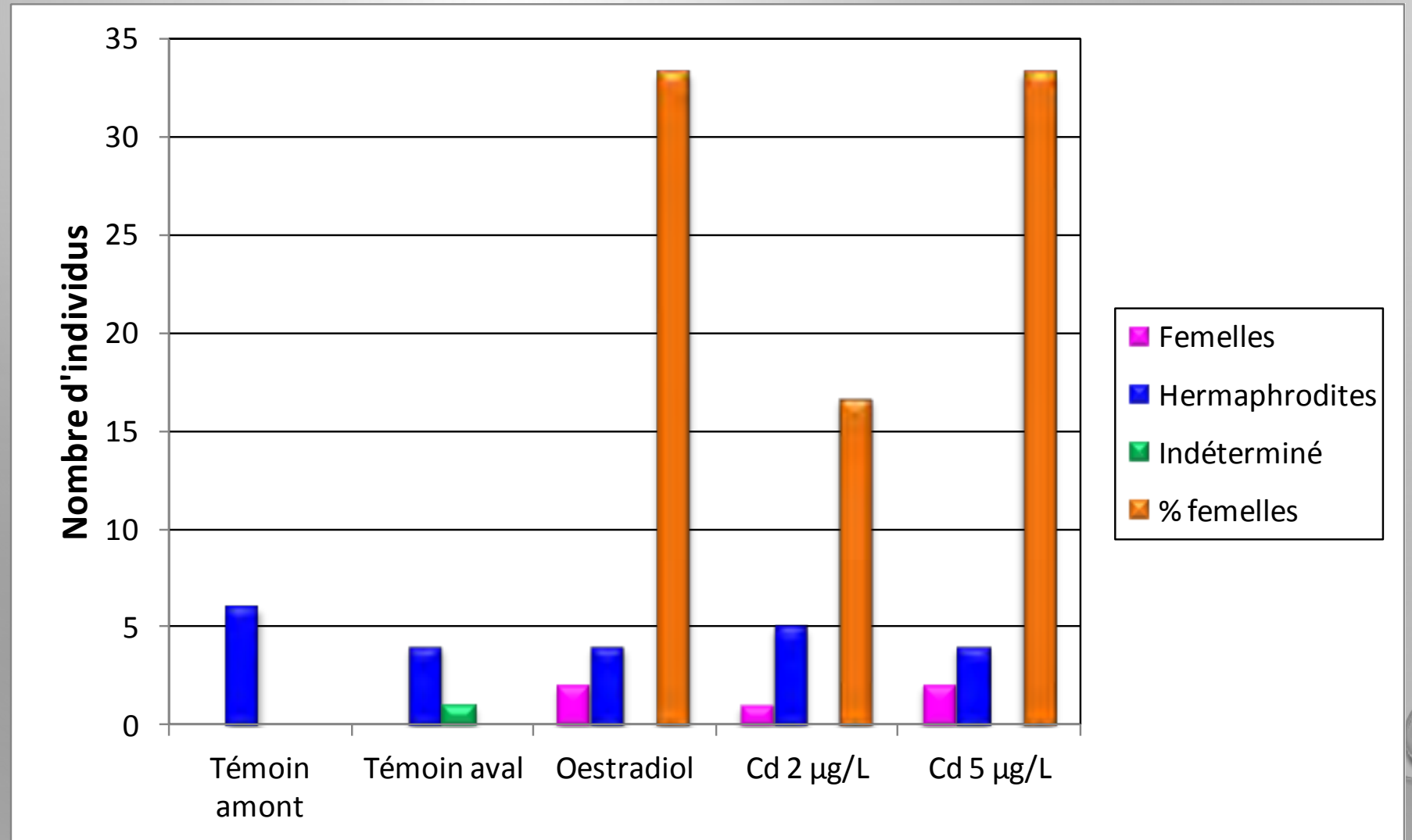
Laboratoire

Analyses histologiques de la gonade

Le Cd mime l'effet de l'oestradiol : Perturbateur endocrinien

Proportions d'individus femelles ou hermaphrodites

Laboratoire



Conclusion

- Bioaccumulation significative de Cd, Pb, Cr, As et Co à l'aval de la décharge de St Saud Lacoussière par rapport à l'amont.
- Augmentation significative des concentrations de métallothionéines (détoxification), génération d'un stress oxydant et perturbation du métabolisme mitochondrial.
- Bioaccumulation du Cd significative en fonction des conditions 2 et 5 µg/L montrant une capacité d'intoxication rapide par ce métal.
- Par contre, pas de réponse des métallothionéines en laboratoire (temps trop court?), alors que les gènes impliqués dans la lutte contre le stress oxydant, dans le métabolisme mitochondrial et dans la détoxification sont surexprimés → mise en place d'une réponse adaptative précoce.
- Rôle de perturbateur endocrinien du cadmium.
- Prédominance d'individus hermaphrodites aussi bien à l'amont qu'à l'aval sur la Dronne.

Perspectives

- Approfondir les analyses issues des prélèvements de terrain et des expérimentations de laboratoire réalisées en 2009/2010
- Développer une méthode d'étude écotoxicogénomique des moules perlières non invasive par le séquençage haut débit du transcriptome puis l'analyse sur l'hémolymphe d'individus *in situ*
- Mettre en place une ferme d'élevage afin de sauvegarder l'espèce sur la Dronne
- Développer des études de sensibilité aux micropolluants et aux facteurs environnementaux sur les stades juvéniles les plus sensibles de la moule



Projet Life+ Nature LIFE13 NAT/FR/000506
Préservation de *Margaritifera margaritifera* et restauration de la
continuité écologique de la Haute Dronne



Merci de votre attention!!!



Paramètres analysés

Gènes recherchés, clonés et séquencés

Fonction	Gène	Amorce oligonucléotidique (5'-3')
Gène de référence	<i>β-actine</i>	ATGTATGTTGCCATTCAGGCTGTa GATGTCGACATCACACTTCATGATb
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	GTGAAGTTAAAGGAACTGTCAAGa CCACCACAGTTCTGCCAATGATGGAb
	<i>sodMn</i>	AATGGTGGTGGTCATATTAATCACTCa GGTATCAGACCTGTTGTTGGTT b
Métabolisme mitochondrial	12S	TGGTGCCAGCAGTCGCGGTTATACCa ACCCCTACTATGTTACGACTTATCCb
Détoxification	<i>mt</i>	GAATTCAGATTTTGAAGCACCGAAGATa TCATTTGCATGAACATCCAGAGTCb